ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 25, 3, 1991

УДК 576.893.192.6 : 595.771

© 1991

НОВЫЕ МОДЕЛИ ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ МАЛЯРИИ PLASMODIUM GALLINACEUM С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ ФАУНЫ СССР

С. П. Расницын, А. Б. Званцов, В. В. Ясюкевич

Установлена способность *An. sacharovi* и *An. pulcherrimus* заражаться *P. gallinaceum* и передавать возбудителя позвоночному — хозяину (цыпленку). Обнаружены существенные различия в экстенсивности и интенсивности заражения разных видов комаров и других характеристик, отражающих взаимоотношения возбудителя и переносчика.

Экспериментальное изучение малярии невозможно без использования лабораторных моделей этого заболевания. Как видно из последних обзоров (Алексеев, Кондрашова, 1985; Алексеев, 1986; Расницын, 1986) и других многочисленных публикаций (Алексеев, Расницын, 1987; Захарова и др., 1988; Чернов, Чунина, 1988, и др.), в настоящее время широко используется модель на основе *Plasmodium gallinaceum* (возбудитель) — *Aedes aegypti* (переносчик). Указанная модель обладает тем существенным недостатком, что применяющийся в ней переносчик не имеет никакого отношения к циркуляции возбудителей малярии человека и, как результат, получаемые данные далеки от требований эпидемиологии.

Цель предлагаемой работы — приблизить модель и, таким образом, получаемые результаты к потребностям здравоохранения нашей страны. Поставленная цель достигается тем, что в модели используются виды комаров, которые являются реальными переносчиками малярии на территории СССР. Кроме того, расширение набора переносчиков позволяет выявлять особенности взаимоотношений разных видов комаров с одним и тем же видом возбудителя.

Для достижения поставленной цели проведено исследование восприимчивости к данному виду возбудителя двух видов комаров: *Anopheles sacharovi* Favre, 1903 и *Anopheles pulcherrimus* Theobald, 1902, которые играют основную роль в действующих очагах малярии в Закавказье и Средней Азии (Артемьев, 1984). Источниками биоматериала служили созданные нами культуры этих видов комаров (Расницын, 1985; Расницын и др., 1989) и штамм *P. gallinaceum*, полученный из лаборатории экспериментальной химиотерапии ИМПиТМ.[1] Оба исследованных вида комаров оказались высоко восприимчивы к данному виду возбудителя: во всех опытах по кормлению разных пулов комаров на цыплятах, больных малярией, были обнаружены зараженные особи, в большинстве опытов комары передавали возбудителя цыплятам-реципиентам. Передача подтверждена клинически, паразитологически (в маз-

---

[1] Благодарим С. А. Рабинович и М. И. Буканову за предоставление штамма и обучение методом работы с ним.

Общая характеристика восприимчивости *Anopheles sacharovi* и *Anopheles pulcherrimus* к *Plasmodium gallinaceum*

General characteristics of susceptibility of *Anopheles sacharovi* and *Anopheles pulcherrimus* to *Plasmodium gallinaceum*

Показатель	Вид комаров	
	An. sacharovi	*An. pulcherrimus*
Число опытов по заражению комаров возбудителем	14	14
Число опытов, в которых комары заразились	14	14
Число опытов по передаче возбудителя от комаров цыплятам-реципиентам	9	5
Число опытов, в которых цыплята-реципиенты заразились возбудителем от комаров	8	4
Число циклов передачи возбудителя через комаров	7	8

ках крови обнаружены типичные формы паразитов) и путем ксенодиагностики (путем обнаружения паразитов в комарах, накормленных кровью на цыплятах-реципиентах). Для проверки возможности поддержания штамма возбудителя осуществлено несколько циклов циркуляции возбудителя с использованием каждого из исследуемых видов комаров. Полученные данные обобщены в таблице.

Неудачные случаи передачи возбудителя от комаров цыплятам можно объяснить тем, что на цыплят нападали только незараженные особи. В этих опытах *An. sacharovi* были заражены на 18 % и на цыпленка напало 8 самок, а для *An. pulcherrimus* эти величины соответственно 22 % и 7 самок. В обоих случаях вероятность нападения только незараженных особей близка к 0.2.

Вероятность того, что факт передачи связан с какими-то случайными явлениями пренебрежимо мала $p<0.01$.

МЕТОДИКА

Оценка каждой новой модели циркуляции возбудителя проводилась путем сравнения с моделью, основанной на использовании комаров *Ae. aegypti*. Для того чтобы избежать различий, связанных с какими-либо посторонними факторами, заражение и анализ сравниваемых видов проводились одновременно и идентично: заражающее кормление представителей сравниваемых видов осуществлялось на одном и том же доноре одновременно (один садок с правой, а другой — с левой стороны тела, при этом расположение садков определялось жребием); после кровососания комаров держали в одном и том же термостате (температура 28±0.5°); анализ зараженности проводили в один и тот же день (спустя 5 сут после заражающего кормления определялось наличие и число ооцист, спустя 10 сут определялось наличие спорозоитов). В период спорогонии комары имели возможность питаться 5%-ным раствором глюкозы. Крови в этот период они не получали, так как известно (Расницын, Жарова, 1984), что данный вид возбудителя способен развиваться при отсутствии повторного кровососания беспозвоночного хозяина. Комаров заражали штаммом возбудителя, который переливался либо кровью, либо через комаров *Ae. aegypti*, что исключало какое-либо влияние возможной адаптации его к новым видам переносчиков. Цыплята, на которых заражали комаров, имели паразитемию 2—3 балла по шкале Немировской (Немировская, 1941; Рабинович, Мошковский, 1964). В опытах использовали только тех комаров, которые выпили полную порцию крови, что определялось по характерному расширению брюшка и отказу от дальнейшего кровососания.

Число опытов по каждому исследованному вопросу указано вместе с результатами. В каждом опыте на 1 анализ каждой группы комаров использовалось от 24 до 32 особей. При заражении цыплят от комаров к ним подсаживали по 10 комаров к каждому цыпленку (но кровь пили не всегда все).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение экстенсивности заражения (доли зараженных особей) *An. sacharovi* и *Ae. aegypti* представлено на рис. 1, *А*. В среднем представители нового вида хозяина заражались несколько хуже, чем представители контрольного вида (44±6 против 70±10 %). Низкая экстенсивность заражения *An. sacharovi* встречается чаще, чем *Ae. aegypti*. Так, например, у *Ae. aegypti* лишь в двух опытах доля зараженных особей была ниже 50 %, а у *An. sacharovi* таких результатов 7. Поскольку в 8 из 10 опытов экстенсивность заражения контрольного вида была выше, чем нового, можно считать, что различия между ними не случайны ($p=0.05$). Но самое главное, что демонстрирует приведенный рисунок, является отсутствие корреляции в зараженности сравниваемых видов ($R=0.22\pm0.30$).

Обратная картина (рис. 2, *А*) наблюдается при сравнении интенсивности заражения (обилия возбудителя в зараженных комарах). В большинстве опытов (8 из 9) интенсивность заражения *An. sacharovi* более высокая, чем *Ae. aegypti* (вероятность случайной разницы $p<0.01$). В среднем число ооцист у нового вида превышало этот показатель у контрольного вида более, чем в 4 раза (104±22 ооцисты на зараженную особь против 25±6). Повышенное обилие возбудителя у *An. sacharovi* нельзя объяснить повышенным количеством выпитой ими крови и, как следствие, повышенным числом заглоченных гаметоцитов возбудителя. *An. sacharovi* действительно выпивают несколько больше крови (2.8 мг), чем *Ae. aegypti* (2.2 мг), но эта разница не соответствует разнице в обилии возбудителя. Опять же, как и при анализе экстенсивности заражения, обращает на себя внимание отсутствие корреляции в обилии ооцист у сравниваемых видов ($R=0.35\pm0.29$). Отсутствие прямой пропорциональности (корреляции) не является, конечно, доказательством отсутствия какой бы то ни было связи вообще. Наоборот, в данном случае (рис. 2, *А*) связь прослеживается: на фоне роста обилия ооцист у *Ae. aegypti* этот же показатель у *An. sacharovi* образует одновершинную кривую с пиком в районе 30—40 ооцист у *Ae. aegypti*. В этом диапазоне обилие ооцист у *An. sacharovi* превышает 200. Весьма вероят-

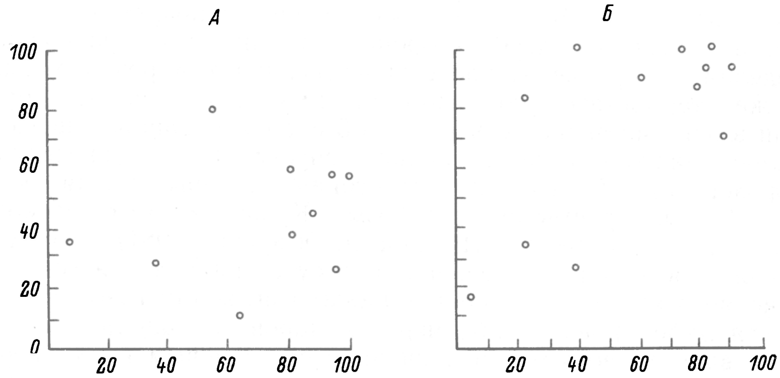

Рис. 1. Сопоставление заражаемости разных видов комаров.

А — *An. sacharovi* и *Ae. aegypti*; *Б* — *An. pulcherrimus* и *Ae. aegypti*; по оси абсцисс — доля (в %) зараженных особей контрольного вида; по оси ординат — то же, в параллельных группах экспериментального вида.

Fig. 1. Comparison of the infection in different species of mosquitoes.

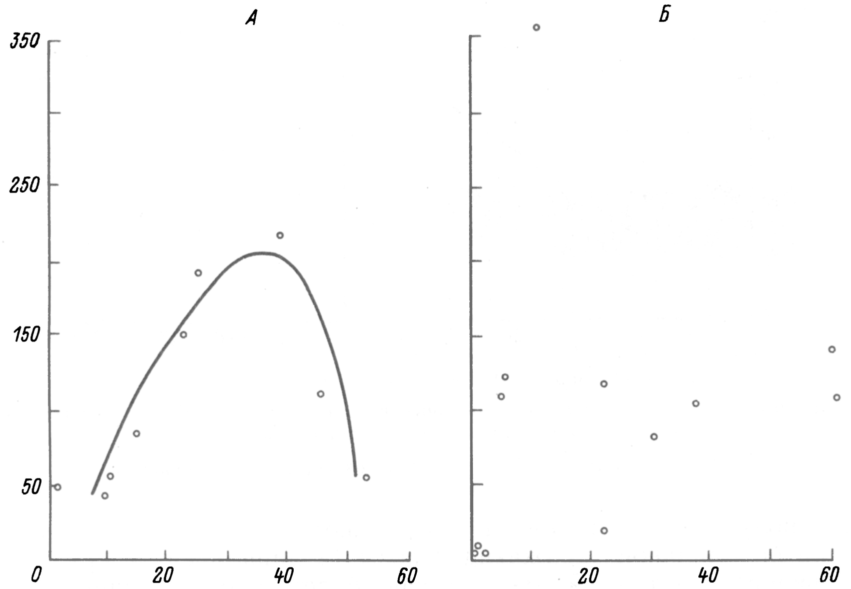

Рис. 2. Сопоставление обилия возбудителя в комарах разных видов.

А — *An. sacharovi* и *Ae. aegypti*; *Б* — *An. pulcherrimus* и *Ae. aegypti*; по оси абсцисс — среднее число ооцист на одну зараженную особь контрольного вида комаров; по оси ординат — то же, в параллельных группах комаров экспериментального вида.

Fig. 2. Comparison of the agent abundance in mosquitoes of different species.

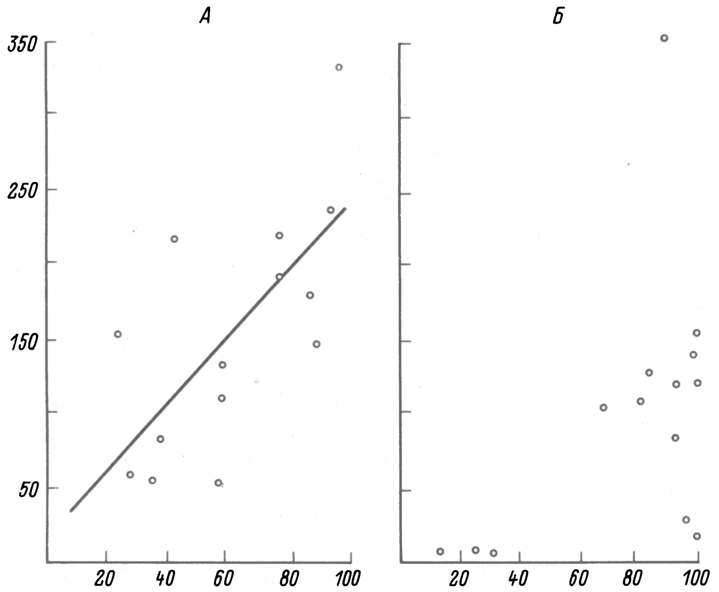

Рис. 3. Сопоставление зараженности комаров и обилия возбудителя у зараженных особей.

А — *An. sacharovi*; *Б* — *An. pulcherrimus*; по оси абсцисс — доля (в %) зараженных особей; по оси ординат — среднее число ооцист на 1 зараженную особь.

Fig. 3. Comparison of the infection rates of mosquitoes and the agent abundance in infected individuals.

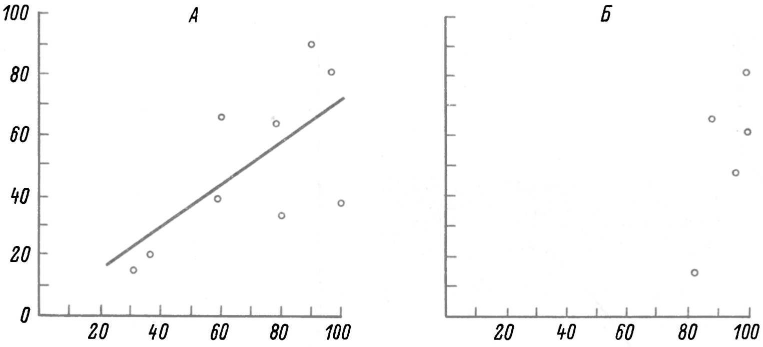

Рис. 4. Оценка «сохраняемости» возбудителя в комарах.

А — *An. sacharovi*; *Б* — *An. pulcherrimus*; по оси абсцисс — доля (в %) особей, имеющих ооцисты возбудителя. По оси ординат — то же, спорозоиты возбудителя.

Fig. 4. Estimation of the agent «preservation» in mosquitoes.

но, что полученные данные подтверждают гипотезу Алексеева (1985) о наличии оптимальной заражающей дозы (в данном случае различной для разных видов), но точный ответ можно будет получить лишь с помощью специальных экспериментов.

Сопоставление заражаемости *An. pulcherrimus* и *Ae. aegypti* (рис. 1, *Б*) показывает, что новый переносчик более восприимчив, чем традиционный: число случаев, когда доля зараженных особей этого вида превосходит долю зараженных особей *Ae. aegypti* — 9, а случаев обратного соотношения только три (вероятность случайной разницы $p=0.05$). В 9 опытах из 12 доля зараженных *An. pulcherrimus* превышала 50 %, а у *Ae. aegypti* таких результатов только 7. Еще резче разница в интенсивности заражения (рис. 2, *Б*): среднее число ооцист у *An. pulcherrimus* в большинстве опытов (57 %) превышало 100 и достигло 350, а у *Ae. aegypti* при тех же самых условиях обилие возбудителя ни разу не превысило 60 ооцист. Разница в заражаемости сравниваемых видов не может объясняться ошибкой репрезентативности: ее вероятность слишком низка ($p<0.01$). Ее нельзя связать и с количеством выпиваемой крови. Наоборот, *An. pulcherrimus* выпивают крови меньше, чем *Ae. aegypti* (1.4 против 2.2 мг). Своеобразие взаимоотношений сравниваемых видов переносчиков с одним и тем же видом возбудителя подчеркивается отсутствием четкой корреляции в их зараженности: по экстенсивности заражения коэффициент корреляции невелик ($R=0.53\pm0.15$), а по интенсивности и вовсе отсутствует ($R=0.12\pm0.28$).

Прямого сопоставления заражаемости новых видов комаров мы не проводили (это не входило в задачу работы), но имеющийся материал позволяет дать ответ и на этот вопрос. Несомненно, что эти виды отличаются не только от контрольного, но и между собой. Различия заключаются в следующем: доля зараженных *An. sacharovi*, как правило, ниже, а *An. pulcherrimus* — выше, чем *Ae. aegypti*. Поэтому следует ожидать, что и при прямом сравнении *An. pulcherrimus* будет заражаться чаще, чем *An. sacharovi*. Сопоставление обилия возбудителя у *An. sacharovi* и *Ae. aegypti* выявляет наличие нелинейной связи между этими характеристиками обоих видов; для *An. pulcherrimus* такая связь не прослеживается. Из этого следует, что не будет большой корреляции между новыми видами и по обилию возбудителя.

На рис. 3 представлена зависимость обилия возбудителя в комарах от доли зараженных особей. Известно (Eyles, 1951), что у *Ae. aegypti* эта связь довольно четкая и имеет нелинейный характер. У каждого из новых видов характер зависимости между сравниваемыми показателями своеобразен и они отличаются как между собой, так и от *Ae. aegypti*. Для *An. sacharovi* зависимость близка к линейной ($R=0.72\pm0.20$) и описывается уравнением $Y=12+2.2X$, где X — доля (в %) зараженных особей, Y — среднее число ооцист у зараженных особей. У *An. pulcherrimus* линейная связь между указанными показателями невелика ($R=0.49\pm0.25$).

Результаты экспериментов позволяют дать предварительную оценку сохраняемости возбудителя в переносчиках, которую можно оценить по изменению доли зараженных особей возбудителем на стадии ооцисты и спорозоита. Фактические данные показаны на рис. 4. У обоих видов оба показателя заражаемости хорошо коррелируют: для *An. sacharovi* $R=0.71\pm0.16$, для *An. pulcherrimus* $R=0.73\pm0.40$. Связь этих показателей описывается уравнениями: $Z=2+0.7U$ (для *An. sacharovi*), где Z — доля (в %) особей, имеющих спорозоиты, U — доля (в %) особей, имеющих ооцисты, и $Z=2.5U-181$ (для *An. pulcherrimus*). Уравнения показывают, что к окончанию спорогонии зараженность исследованных видов резко снижается. Причина снижения может быть разной: то ли зараженные комары погибают в большем числе, чем не зараженные, то ли спорозоиты не всегда достигают слюнных желез. (Этот вопрос требует специального изучения). Но несомненно, что у сравниваемых видов эти процессы происходят с разной интенсивностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что комары *An. sacharovi* и *An. pulcherrimus* способны заражаться возбудителем малярии *P. gallinaceum* и передавать его позвоночному хозяину (цыпленку). Эти виды пригодны для лабораторного моделирования циркуляции указанного вида возбудителя. Тот факт, что оба вида комаров являются реальными переносчиками малярии на территории СССР, позволяет считать, что их использование в модели приближает получаемые результаты к реальным процессам, происходящим в очагах указанного заболевания.

Обнаружены существенные различия во взаимоотношениях разных видов комаров с одним и тем же видом возбудителя. Они заключаются в том, что *An. pulcherrimus* заражается чаще, чем *Ae. aegypti*, который, в свою очередь, превосходит *An. sacharovi*. По обилию возбудителя в зараженных особях оба новых вида переносчиков превосходят *Ae. aegypti*. У *An. sacharovi* отмечена более высокая сохраняемость возбудителя (в среднем 71 %) и степень связи между экстенсивностью и интенсивностью заражения ($R=0.72$), чем у *An. pulcherrimus* (соответственно 57 % и $R=0.49$).

Список литературы

Алексеев А. Н. Возможное значение фактора оптимальных заражающих доз в системе возбудитель—переносчик малярии // Мед. паразитол. 1985. № 3. С. 10—17.

Алексеев А. Н. Взаимоотношения возбудителя малярии и беспозвоночного хозяина // Малярийные паразиты млекопитающих. Л.: Наука, 1986. С. 53—77.

Алексеев А. Н., Кондрашова З. Н. Организм членистоногих как среда обитания возбудителей. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1985. 181 с.

Алексеев А. Н., Расницын С. П. Всегда ли необходимы сахара для заражения комаров плазмодиями малярии // Паразитология. 1987. Т. 21, вып. 2. С. 97—100.

Артемьев М. М. Комары Anopheles — переносчики малярии в СССР // Борьба с малярией экологически безопасными методами. Ч. 2. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1984. С. 44—60.

Захарова Н. Ф., Ганушкина Л. А., Чернов Ю. В., Чунина Л. М., Якубович В. Я., Ясюкевич В. В. Восприимчивость к малярийным плазмодиям комаров Aedes aegypti L., пораженных энтомопатогенным вирусом // Мед. паразитол. 1988. № 6. С. 18—22.

Немировская А. И. Закон реинокуляции при малярии // Мед. паразитол. 1941. № 3—4. С. 324—339.

Рабинович С. А., Мошковский Ш. Д. Экспериментальное изучение противомалярийного

препарата галохина (циклохин). Сообщ. 1. Сравнение гематошизотропной активности галохина и хлорохина при равных дозах // Мед. паразитол. 1964. № 4. С. 472—478.
Расницын С. П. Массовое культивирование Anopheles sacharovi Favre // Мед. паразитол. 1985. № 6. С. 54—56.
Расницын С. П. Влияние возбудителей малярии на векторные способности переносчиков // Малярийные паразиты млекопитающих. Л.: Наука, 1986. С. 162—167.
Расницын С. П., Жарова А. Н. Отсутствие влияния повторного кровососания комаров на их заражаемость возбудителем малярии // Паразитология. 1984; Т. 18, вып. 2. С. 179—181.
Расницын С. П., Званцов А. Б., Войцик А. А., Ясюкевич В. В. Создание лабораторной колонии Anopheles pulcherrimus // Мед. паразитол. 1989. № 3. С. 88.
Чернов Ю. В., Чунина Л. М. Начальные стадии постспорозоитного развития малярийного паразита в комаре // Мед. паразитол. 1988. № 4. С. 7—10.
Eyles E. Studies on Plasmodium gallinaceum. 1. Characteristics of infection in the mosquito Aedes aegypti // Am. J. Hyg. 1951. Vol. 54, N 1. P. 101—112.

ИМПиТМ им. Е. И. Марциновского
Минздрава СССР, Москва

Поступила 20.01.1990

NEW CIRCULATION MODELS OF THE MALARIA AGENT, PLASMODIUM GALLINACEUM, WITH THE USE OF ANOPHELINES OF THE USSR FAUNA

S. P. Rasnitsyn, A. B. Zvantsev, V. V. Jasjukevich

Key words: malaria agent, anophelines, model of malaria agent circulation

SUMMARY

The capacity of *An. sacharovi* and *An. pulcherrimus* to be infected with *P. gallinaceum* and to transmit the agent to the vertebrate host, a chick, has been established. Sufficient differences have been found in the extensiveness and intensity of infection of different species of mosquitoes and in other characteristics reflecting the agent-vector relationships.